

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 7 日現在

機関番号：15501

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26660199

研究課題名(和文) 光強度の時間変動を利用した植物の抗酸化能の増強

研究課題名(英文) Enhancement of antioxidant capacity of plant leaves by dynamic variation of light intensity

研究代表者

荊木 康臣 (Ibaraki, Yasuomi)

山口大学・農学部・教授

研究者番号：50242160

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、植物葉の抗酸化能の強化を目的とした光環境制御技術におけるブレイクスルーをめざし、レタスのベビーリーフ栽培をモデルに、光強度の時間変動と生育および抗酸化能(ORAC)との関係を調査した。その結果、補光により与えた適度な光強度変動がベビーリーフの生育を促進する可能性が示されたが、抗酸化能に関しては、光強度変動との明確な関係は認められなかった。さらに、1日の積算光量を一定とした場合は、比較的弱い光を長時間照射すると、生育は向上するものの、抗酸化能は低下する可能性が示唆された。以上、光強度の変動はレタスベビーリーフの生育や抗酸化能に影響を与える可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：In this study, the effects of dynamic variation of light intensity on antioxidant capacity (ORAC) and growth of lettuce leaves were investigated to acquire innovative knowledge on light environment control in plant production. The moderate variation of light intensity by supplementary lighting promoted lettuce growth. In addition, continuous irradiation with low PPFD had a potential to promote the growth but reduce the antioxidant capacity under constant daily cumulative PPFD. These results suggested that dynamic variation of light intensity might affect growth and antioxidant capacity of lettuce leaves.

研究分野：農業生産環境工学

キーワード：LED ORAC 補光 光合成曲線 変動係数

1. 研究開始当初の背景

近年、市場での優位性や安定的な収入の確保といった観点から、作物の高付加価値化に関する研究が国内外で活発化している。なかでも強光照射や特定波長光の付加照射により、植物の抗酸化成分含量が高まること、葉菜類やスプラウトを中心に様々な植物種で報告されてきた。しかしながら、再現性の低さや、最適照射条件の品種依存性などの問題が指摘されており、安定的に抗酸化能を高める(抗酸化成分含量を高める)光照射技術は未だ確立されていないのが現状である。

光照射による抗酸化能向上のメカニズムは未だ明確ではないが、光照射が適度なストレスとして働き、それにより活性酸素が増加し、それを植物が除去するために抗酸化能を高める可能性が考えられる。すなわち、ある程度の光ストレスや余剰の光エネルギーが抗酸化能の誘導には必要であると推察されるが、光照射条件が一定の場合、照射を開始した時のストレスが、植物の順化能により薄れていく可能性がある。この観点から、植物の抗酸化能を促進するための適度な光ストレスを効果的に付加するには、照射光強度を変動させることが有効かもしれない。実際、自然光下では光の変動は日常的に行っているが、その影響は十分に調査されていない。また、その影響を考慮した光環境制御は全く行われていない。しかしながら、近年のLEDなどにみる照明技術の発達により、人工光下や補光下において、光強度の変動を容易に制御できるようになってきており、光強度変動の植物への影響を調査することは意義があると考えられる。

2. 研究の目的

本研究では、作物の高付加価値化の観点から、植物葉の抗酸化能の強化を目的とした光環境制御技術における新たなブレイクスルーをめざし、光強度の時間変動と抗酸化能の関係を調べることを目的としている。具体的には、以下を目標に研究を進めた。

- (1) 光強度の時間変動パターンを制御できる実験装置の製作
- (2) 光強度の時間変動の評価指標の導出
- (3) 変動評価指標と ORAC (Oxygen Radical Absorption Capacity: 活性酸素除去能力) との関係の調査・解析
- (4) 光強度変動の影響を利用した抗酸化能向上のための光環境制御法の提案

3. 研究の方法

- (1) モデル植物の選定と光強度変動を与える栽培試験方法の確立

モデル植物には、収穫までの期間が短く、光環境の制御が容易であるレタスベビーリーフを用いた。ここで、ベビーリーフとは、葉菜類を幼葉の段階で収穫するもので、通常の葉菜よりも栄養価が高く、葉そのものが柔らかいため、生でも食べやすく、抗酸化能の

強化による商品価値の向上が期待できる。

栽培は、湛液式の水耕栽培により、側面に蛍光灯が設置され、側方より光照射を行う温度制御インキュベータ内で行った。光強度の変動を制御するために、栽培棚面上部に管状のLED照明を複数(昼白色LEDと電球色LEDの混合)設置し、タイマにより点灯を制御した。

(2) 抗酸化能の評価

抗酸化能の評価には、ORAC法を用いた。ORAC法では、ラジカル発生剤であるAAPH(2,2'-アゾビス(2-メチルプロピオンアミジン)二塩酸塩)により発生したペルオキシラジカルによって、標識蛍光物質であるFluoresceinが分解される過程を、Fluoresceinの蛍光強度の経時変化として捉え、蛍光強度の総和(Area Under Curve: AUC)を算出し、標準抗酸化物質Troloxのそれと比較することで、Trolox当量として、評価するものである。

試料を凍結乾燥した後、粉碎し、遠沈管に入れジクロロメタンとヘキサンを加え、遠心分離し、上澄み液を除去した沈殿物をAWA溶液で抽出したものをサンプル原液として利用した。ORACの測定には、OxiSelect ORAC Activity Assay Kit (CELL BIOLABS)を使用し、Fluoresceinの蛍光強度の経時変化は96wellマイクロプレートを利用して、蛍光マイクロプレートリーダー(CORONA、MTP 900-Lab)で37℃下において測定した(励起波長492 nm、観察波長530 nm)。

(3) 光強度変動が植物の生育と抗酸化能に与える影響の調査

実験材料には、レタス(レッドオーク)のベビーリーフを用いた。栽培は22℃に制御されたインキュベータ内で行った。

白色蛍光灯を常時点灯した状態(PPFD 160 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)でLED照明による補光を行うことで、栽培期間中の光強度を変動させた。以下の4種類の光強度変動パターンを設定した。

PPFD 90 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ で60分中15分補光(以下、90a区)

PPFD 90 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ で20分中5分補光(以下、90b区)

PPFD 150 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ で60分中15分補光(4時間に1時間は補光無)(以下、150区)

PPFD 210 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ で60分中5分補光(以下、210区)。

なお、これらの補光による栽培期間中の総光量の増加は、3~10%であった。

光強度変動の定量化指数としては、変動係数(=標準偏差/平均)、日変動幅(最大値-最小値、 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)、平均時間変動幅($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)、平均変化速度($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-2}$)等を算出し、生育、抗酸化能との関係を調査した。

- (4) 1日の積算光量を一定にし、明期時間を変えた際の生育と抗酸化能の調査

レタス(レッドオーク)を供試植物に、日

積算 PPFD を統一した条件下で光強度・明期時間の異なる 2 試験区 (250 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1} \times$ 明期 16 時間、以下 250 区と 167 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1} \times$ 明期 24 時間、以下 167 区) を設定し、栽培を行った。人工照明には上部に設置された白色蛍光灯を用い、気温は 22 に制御した。

光-光合成曲線をガス交換測定およびクロロフィル蛍光測定から求め、光合成特性の経時変化を調査するとともに、収穫時(播種後 23 日)の生育および ORAC を比較した。

4. 研究成果

(1) 補光により与えた光強度変動と生育、抗酸化能の関係

様々な光強度の変動パターンがベビーリーフレタスの生育に与える影響について調査した結果、90a 区と 90b 区では、補光により有意に生体重が大きくなり(図 1)、乾物重においても補光区で、50%程度増加した。一方、150 区と 210 区においては生体重・乾物重ともに補光区と対照区間に有意な差は認められなかった。これらのことから、PPFD160 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の光条件下で PPFD 90 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ で 1 時間中 15 分程度の補光を行うことで、ベビーリーフレタスの生育が促進される可能性が示唆された。なお、補光により、総光量も増加するが、その増加分(最大で 10%)と比較しても、乾物重の増加割合が大きく、総光量の増加以外の要因が影響を与えている可能性があると思われる。

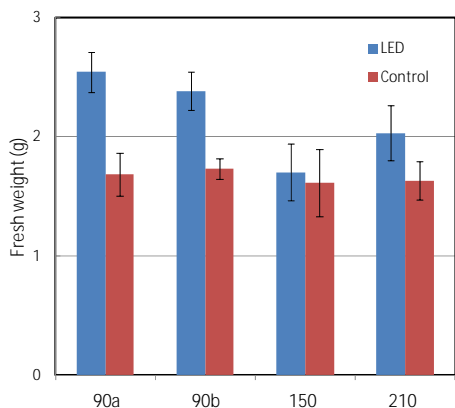


図 1 様々な補光条件と生体重の関係

さらに、光強度の変動の度合いを、変動係数を用いて定量化し、生育との関係を調べたところ(図 2) 光強度の変動係数が小さい場合とかなり大きい場合においては、乾物重は小さく、光強度の変動係数が適度に高い場合に、乾物重が大きくなる傾向が認められた。すなわち、適度な光強度の変動は生育を促進する可能性が示唆された。

次に、光強度の変動がベビーリーフレタスの抗酸化能に与える影響について調査した。図 3 に、4 種類の補光条件(光変動パターン)と抗酸化能との関係を示す。90a 区、90b 区、210 区においては、ORAC 値のばらつきが大き

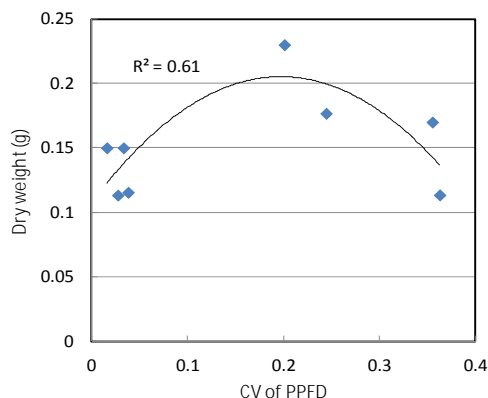


図 2 PPFD の変動係数と乾物重の関係

く、試験区間での差は見られなかった。150 区においては、試験区内間でのばらつきは小さかったものの、試験区間での差は見られなかった。今回の実験からは、光強度の変動がレタスベビーリーの抗酸化能に与える明確な影響については不明であった。

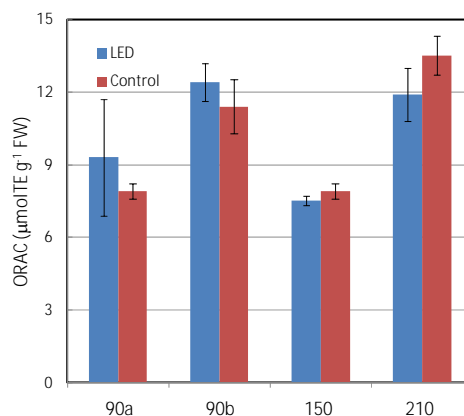


図 3 様々な補光条件と ORAC の関係

なお、今回供試したレタス(レッドオーク)では、葉色のばらつきが大きく、赤色が強い個体の方が緑色の個体より ORAC が有意に高くなる傾向が認められ、このことが、ORAC のばらつきを生じさせている要因の 1 つと考えられた。

(2) 1 日の積算光量を一定にし、明期時間を変えた際の生育と抗酸化能の調査

試験区間の光合成特性を比較したところ、167 区では、250 区と比較して相対的に陰葉化の傾向が認められた。さらに、測定された光-光合成曲線を用いて日積算光合成量を推定した結果、250 区と比較して 167 区において日積算光合成量が大きくなり、実際の生育においても、167 区において生体重(図 4)、乾物重、葉面積が有意に増加した。また、167 区と 250 区で ORAC 値を比較したところ、167 区は 250 区と比較して有意に低かった(図 5)。

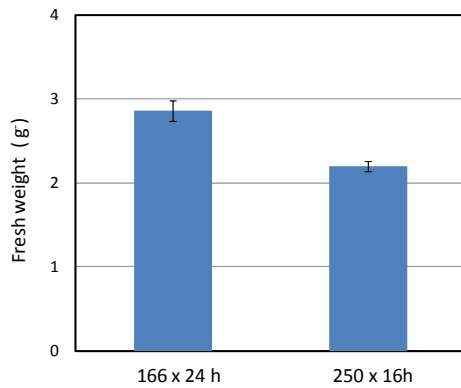


図 4 日積算光量を統一した際の明期時間(PPFD)の生体重への影響

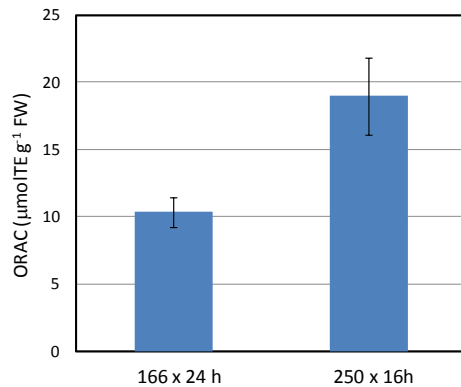


図 5 日積算光量を統一した際の明期時間(PPFD)の抗酸化能への影響

これは、167 区では、250 区と比較して相対的に弱い光強度で、かつ光強度の変動がない(暗期がない)状態で生育したためであると考えられたが、詳細なメカニズムに関しては、更なる研究が必要である。以上、1 日の総光量を統一した場合、弱光で 24 時間照射の方が、生育は向上したものの、抗酸化能は低下する可能性が示唆された。

以上の結果より、光強度の変動はレタスベビーリーフの生育や抗酸化能に影響を与える可能性が示唆された。補光の時間制御により、光強度変動の制御は可能であり、今後さらなる詳細な実験を通じ、光強度の変動を積極的に与える光環境制御法の実現が期待される。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 1 件)

森尾聡・荊木康臣、植物工場における光 - 光合成曲線に基づいた光環境制御に関する研究 .中国四国の農業気象、28: 25-26、2016 (査読なし)

[学会発表](計 1 件)

荊木康臣・森尾聡・野津光咲・西野智昭、ベ

ビーリーフ栽培における光環境が生育と抗酸化能に与える影響、日本生物環境工学会 2016 年金沢大会、2016 年 9 月 13 日、金沢市、石川県(予定)

6. 研究組織

(1)研究代表者

荊木 康臣 (IBARAKI, Yasuomi)

山口大学農学部・教授

研究者番号：50242160